

Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) de l'enfant et de l'adulte : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Cytogenetics in the management of children and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Laurence Baranger¹
Wendy Cucchini²
Christine Lefebvre³
Isabelle Luquet⁴
Christine Perot⁵
Isabelle Radford⁶
Marina Lafage-Pochitaloff⁷

¹ Laboratoire de génétique, IBS-CHRU, Angers, France

² Laboratoire central d'hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

³ Laboratoire de cytogénétique onco-hématologique, Institut de biologie et de pathologie, CHU Grenoble, Grenoble, France

⁴ Génétique des hémopathies, Laboratoire d'hématologie, IUCT-O, Toulouse, France

⁵ Unité de cytogénétique onco-hématologique, Laboratoire d'hématologie, Hôpital Saint-Antoine, APHP, Paris, France

⁶ Unité de cytogénétique hématologique, Service d'histo-embryologie et de cytogénétique, Hôpital Necker-enfants malades, Paris, France

⁷ Laboratoire de cytogénétique onco-hématologique, Hôpital Timone enfants, APHM, Marseille, France; Inserm U1104, Aix-Marseille Université, Marseille, France
<marina.lafage@ap-hm.fr>

Article reçu le 24 février 2016,
accepté le 29 février 2016

Tirés à part : M. Lafage-Pochitaloff

Résumé. L'analyse cytogénétique (caryotype complété si besoin par les analyses FISH adéquates) est un examen indispensable lors du diagnostic d'une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL). Elle est prise en compte dans les protocoles thérapeutiques actuels en raison de sa valeur diagnostique et pronostique. Dans certains cas, d'autres techniques que la FISH (RT-PCR, RQ-PCR, index ADN, SNP-array, MLPA. . .) peuvent compléter le caryotype, soit parce qu'elles sont aussi informatives que la FISH, soit parce qu'elles détectent des anomalies indétectables par FISH. Dans cet article, nous avons tenté d'établir des recommandations sur les analyses FISH utilisées en complément du caryotype : choix des sondes en fonction des résultats du caryotype, du phénotype de la leucémie et de l'âge des patients. Ces recommandations sont basées sur les données les plus récentes de la littérature qui est également revue dans cet article sur la base de la classification OMS 2008 complétée avec les nouvelles entités cytogénomiques récemment reconnues telles que les LAL Ph-like et leurs possibles implications thérapeutiques.

Mots clés : leucémie aiguë lymphoblastique, cytogénétique, diagnostic, caryotype, hybridation *in situ* (FISH)

Abstract. Cytogenetic analyses (karyotype and, if necessary, appropriate complementary FISH analyses) are mandatory at diagnosis in acute lymphoblastic leukemia (ALL) as their results are taken into account in therapeutic protocols due to their diagnostic and prognostic values. In some cases, karyotype can be completed by other techniques (RT-PCR, RQ-PCR, DNA content, SNP-array, MLPA. . .) that can be equally or more informative than FISH. Here, we have tempted to establish guidelines concerning karyotype and FISH analyses according to the most recent data of the literature which is reviewed here, completing the 2008 WHO classification with the recent new cytogenomic entities such as Ph-like ALL and indicating possible therapeutic implications.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, cytogenetics, diagnosis, karyotype, *in situ* hybridization (FISH)

Les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) sont des proliférations clonales de cellules immatures engagées dans la différenciation lymphoïde B (LAL-B) ou T (LAL-T) et bloquées à un stade précoce de la différenciation. Cette prolifération a lieu dans la moelle osseuse puis envahit les autres tissus, en particulier le sang périphérique, les organes lymphoïdes (ganglions, rate et, pour les T, thymus) et le système nerveux central. C'est une pathologie rare (40 cas/an/million d'habitants), mais c'est la pathologie maligne la plus fréquente chez l'enfant, trois fois plus fréquente que chez l'adulte. Les LAL de lignée B sont trois à quatre fois plus fréquentes que celles de la lignée T : 85 % de LAL-B chez l'enfant et 75 % chez l'adulte. Dès les années 1980, l'hétérogénéité des LAL liée à la présence d'anomalies chromosomiques caractéristiques ayant une valeur pronostique indépendante des autres paramètres cliniques et biologiques a été reconnue. La répartition des anomalies cytogénétiques est différente chez l'enfant et chez l'adulte, avec une majorité d'anomalies associées à un pronostic favorable chez l'enfant, ce qui explique en partie la différence de pronostic entre enfant et adulte avec un taux de guérison chez l'enfant proche de 85 %, soit deux fois plus que chez l'adulte. La classification des LAL proposée par l'OMS en 2008 [1] reflète cette importance en tenant compte des résultats de la cytogénétique lors du bilan diagnostique. Elle ne distingue cependant que certaines anomalies cytogénétiques récurrentes et ce uniquement dans les LAL-B, soit du fait de leur valeur pronostique (hyperdiploïdie, hypodiploïdie, t(9;22), t(12;21), réarrangements *MLL*), soit de leur spécificité clinico-biologique (t(1;19), t(5;14)). Parmi ces anomalies récurrentes, une place particulière est réservée dans les protocoles thérapeutiques aux LAL avec translocation t(9;22)/*BCR-ABL1* (chromosome Philadelphie (Ph)) afin que ces patients puissent bénéficier d'une thérapeutique ciblée dirigée contre l'activité tyrosine kinase de la protéine chimérique *BCR-ABL1*. Les autres LAL-B sont classées par l'OMS 2008 dans un groupe sans anomalie caractéristique (NOS : *not otherwise specified*). Les LA de type Burkitt ont été exclues des LAL-B pour être reclassées avec les proliférations lymphoïdes B matures. Certains marqueurs moléculaires, comme la délétion d'*IKZF1* (Ikaros) dans les LAL-B et les LAL de type Ph-like ainsi que de nombreuses entités cytogénétiques au sein des LAL-T n'ont pas été intégrés dans la classification OMS de 2008, car leur valeur clinique n'était pas encore clairement établie [2].

La valeur pronostique de la cytogénétique des LAL persiste à l'heure actuelle même si les progrès thérapeutiques ont permis d'améliorer le pronostic de certaines entités et si de nouveaux marqueurs moléculaires à forte valeur pronostique ont été mis en évidence. Les protocoles thérapeutiques actuels combinent les marqueurs cytogénétiques

et moléculaires (marqueurs cytogénomiques) établis sur les prélèvements du diagnostic mais tiennent compte également du suivi de la maladie résiduelle (MRD pour *minimal residual disease*) quantifiée par des techniques moléculaires ou immunophénotypiques afin de garantir une prise en charge optimale du patient [2].

Données de la littérature

Anomalies chromosomiques et moléculaires associées aux LAL-B (tableau 1)

Au sein des LAL-B avec anomalie cytogénétique récurrente, on peut distinguer les LAL avec anomalies de structure et les LAL avec anomalies de la ploïdie (anomalies de nombre).

LAL-B avec anomalies chromosomiques de structure

*Translocation t(9;22)(q34;q11.2) ou chromosome Philadelphie (Ph), fusion *BCR-ABL1**

Identifiée à Philadelphie en 1960 dans la leucémie myéloïde chronique, cette anomalie est également présente dans les LAL-B principalement chez l'adulte (25 % des LAL de la lignée B), beaucoup plus rarement chez l'enfant (3 %). Le phénotype associé, selon le Groupe européen d'immunophénotypage des leucémies (EGIL), est le plus souvent BII (CD10+), avec expression de marqueurs de la lignée myéloïde comme CD13 ou CD33. Cette translocation entraîne la création d'un gène de fusion impliquant le gène *BCR* sur le chromosome 22 et le gène *ABL1* sur le chromosome 9. *ABL1* est une enzyme à activité tyrosine kinase ; le réarrangement *BCR-ABL1* conduit à une dérégulation de cette activité, qui devient constitutive. Le pronostic était très défavorable avant l'arrivée d'inhibiteurs d'activité tyrosine kinase (ITK) comme l'imatinib, le dasatinib ou le nilotinib qui sont combinés avec la chimiothérapie. Le diagnostic cytogénétique et/ou moléculaire doit donc être très rapide (délai maximum 1 semaine). À noter l'existence très fréquente, dès le diagnostic, d'événements secondaires surajoutés : anomalies chromosomiques additionnelles (ACA) dans 60 % des cas - hyperdiploïdie (qui ne doit pas être confondue avec l'entité LAL hyperdiploïde de bon pronostic et qui a souvent pour trait caractéristique la présence d'une trisomie 2), duplication du chromosome Ph, trisomie 8, délétions 7p ou 9p, monosomie 7 et, dans 80 % des cas délétion du gène *IKZF1*(7p12) ([3] et références incluses).

*Translocation t(v;11q23), réarrangement *MLL**

Ces translocations impliquent le gène *MLL* (*mixed lineage leukemia*), renommé récemment *KMT2A* et situé dans la bande chromosomique 11q23. Plus de 120 partenaires de *MLL* ont été jusqu'ici identifiés [4] d'où le terme de v

Tableau 1. LAL-B, anomalies cytogénétiques associées à une valeur pronostique.

Anomalies cytogénétiques	Gènes ou nombre modal de chromosomes	Groupe d'âge (fréquence dans les LAL-B)	Caractéristiques cliniques et biologiques
Pronostic favorable			
Hyperdiploïdie élevée t(12;21)(p13;q22)*	51 à 65 chromosomes <i>ETV6(TEL)-RUNX1(AML1)</i>	Enfant (25 %)/adulte (7 %) Enfant (25 %)/AJA (5 %)/adulte (1 %)	BII (CD10 pos) BII (CD10 pos), exceptionnel après 25 ans
Pronostic intermédiaire			
t(1;19)(q23;p13) Translocations <i>IGH</i> (14q32) en particulier celles dérégulant <i>CRLF2</i> t(X;14)(p22;q32)*/ t(Y;14)(p11;q32)* del(X)(p22p22)*/del(Y)(p11p11)*	<i>TCF3(E2A)-PBX1</i> <i>IGH</i> (14q32) et <i>CRLF2</i> (Xp22 et Yp11) <i>P2RY8</i> et <i>CRLF2</i> (Xp22 et Yp11)	Enfant (5 %)/adulte (5 %) Enfant (10 %)/AJA (20 %)/adulte (8 %)	BIII (μ intracytoplasmique) 22 % des <i>tIGH</i> impliquent <i>CRLF2</i> ; profil Ph-like fréquent (indication ITK); délétion <i>IKZF1**</i> ; syndrome de Down ou non
Pronostic défavorable			
t(9;22)(q34;q11) ou Ph	<i>BCR-ABL1</i>	Enfant (3 %)/adulte (30 %)	BII (CD10 pos), indication d'ITK, délétion <i>IKZF1**</i>
t(4;11)(q21;q23) et autres t(v;11q23) *	<i>KMT2A-AFF1 (MLL-AF4)</i> et autres transcrits <i>KMT2A (MLL)</i>	Nourrisson (80 %)/enfant (10 %)/adulte (10 %)	BI (CD10 neg)
t(17;19)(q22;p13)	<i>TCF3-HLF</i>	Enfant (2 %)	CIVD, hypercalcémie
Quasi-haploïdie	24 à 29 chromosomes	Enfant (1 %)	Anomalies <i>NF1</i> et <i>RAS</i>
Hypodiploïdie sévère/quasi-triploïdie	30 à 39/60 à 78 chromosomes	Adulte (5 %)/ Enfant (1%)	Mutation <i>TP53</i> somatique ou germinale
Amplification intrachromosomique du 21 ou <i>iAMP21*</i>	Au moins 4 copies <i>AML1</i> sur un chromosome 21 anormal	Enfant (4 %)	Pronostic intermédiaire si traitement intensif

*Anomalie cryptique ou difficile à identifier par le caryotype : à déceler par FISH et/ou PCR ;**délétion *IKZF1* : taille variable, diagnostic moléculaire, 15 % des LAL-B de l'enfant et 30-50 % de celles de l'adulte, pronostic défavorable sauf si associée à cytogénétique favorable. Abréviations : AJA : adolescent et jeune adulte ; CIVD : coagulation intravasculaire disséminée ; ITK : inhibiteur de tyrosine kinase ; neg : négatif ; pos : positif.

(variable) dans la nomenclature OMS de ces translocations. Le partenaire principal de *MLL* dans les LAL-B est le gène *AFF1 (AF4)*, situé en 4q21 via la translocation t(4;11)(q21;q23). Les autres partenaires fréquents dans les LAL sont *MLLT3 (AF9; t(9;11)(p22;q23))* et *MLLT1 (ENL; t(11;19)(q23;p13.3))*. Un réarrangement impliquant *MLL* est retrouvé dans 8 % des LAL-B de l'enfant et 10 % de celles de l'adulte, avec un pic de fréquence chez le nourrisson (80 % des LAL-B survenant avant l'âge de 1 an). Ces LAL ayant un réarrangement *MLL* n'expriment qu'exceptionnellement le marqueur CD10, marqueur très précoce de la différenciation B, démontrant le caractère extrêmement précoce du blocage de la différenciation lymphoïde B. Le pronostic, globalement défavorable, est dépendant de l'âge, et du partenaire du gène *MLL* en particulier très défavorable chez le nourrisson de moins de 6 mois et, chez l'adulte, plus défavorable si le partenaire est *AFF1*. *MLL* code pour une enzyme méthylant l'histone H3 (H3K4), qui se fixe sur l'ADN et conduit ainsi à une activation transcriptionnelle. Les fusions impliquant *MLL* coupent le gène en deux, séparant le domaine de liaison à l'ADN du domaine enzymatique. Certains partenaires de fusion de *MLL* (dont *AFF1*, *MLLT3* et *MLLT1*) participent à la méthylation de l'histone H3 sur un autre acide aminé

(H3K79) via le recrutement de hDOT1L. Ces modifications conduisent à une surexpression d'oncogènes comme *HOXA9*. Seuls de rares événements additionnels ont été identifiés, aussi bien sur le plan cytogénétique que moléculaire, suggérant, avec le fait de l'existence de leucémies chez le nourrisson, que les réarrangements *MLL* seraient un événement initiateur et suffisant dans le développement de la leucémie ([4] et références incluses)

Translocation t(12;21)(p13;q22), fusion ETV6-RUNX1

Cette translocation est passée très longtemps inaperçue, malgré sa grande fréquence, du fait de son caractère cryptique, c'est-à-dire indétectable par le caryotype, qui cependant est anormal dans 85 % des cas (trisomie 21, délétion 9p et/ou 12p, tétraploïdie) ([5] et références incluses). Le diagnostic est donc moléculaire, soit par FISH, soit par RT-PCR, qui met en évidence la fusion entre les gènes *ETV6 (TEL)* et *RUNX1 (AML1)*. Cette translocation est présente chez l'enfant à une fréquence élevée (25 % des LAL-B de l'enfant), mais rarement chez l'adulte (1 %), étant exceptionnelle après 25 ans. Elle est associée à un pronostic favorable, avec cependant l'existence de rechutes tardives mais qui répondent bien à la chimiothérapie. La présence d'anomalies cytogénétiques ou moléculaires

surajoutées ne modifie pas ce bon pronostic [6]. *ETV6* code pour un facteur de transcription de la famille ETS et *RUNX1* code pour également un facteur de transcription critique de l'hématopoïèse. Le réarrangement *ETV6-RUNX1* est une anomalie qualitative qui aboutit pour *ETV6* à la perte du domaine de liaison à l'ADN (ETS) et la conservation du domaine d'oligomérisation (*pointed domain*, PD), pour *RUNX1* à la conservation des domaines de liaison à l'ADN et à l'histone acétyltransférase p300 ainsi que du domaine d'activation de la transcription. *ETV6-RUNX1* est un événement initiateur mais insuffisant pour déclencher une leucémie, comme l'a montré la présence de réarrangements *ETV6-RUNX1* et *IGH* identiques chez des jumeaux monozygotes sur des bandelettes de type Guthrie dès la naissance, alors que seul l'un des deux va présenter une LAL de ce type [7].

Translocation t(1;19)(q23;p13), fusion TCF3-PBX1

Cette translocation se trouve sous 2 formes cytogénétiques : soit équilibrée (présence des deux chromosomes dérivés, t(1;19)(q23;p13)), soit, le plus souvent, déséquilibrée avec uniquement présence du chromosome dérivé 19 : (der(19)t(1;19)(q23;p13)). Elle est retrouvée dans 5 % des LAL de l'enfant ou de l'adulte et implique dans 90 % des cas les gènes *TCF3* (*E2A*) et *PBX1* ([8] et références incluses). Dans ce cas elle est associée à un phénotype pré-B (CD10+, chaîne μ intracytoplasmique) et à un pronostic favorable à intermédiaire avec les protocoles actuels de chimiothérapie, avec un risque préférentiel de rechute dans le système nerveux central ([2] et références incluses). *TCF3* code pour les facteurs de transcription de la famille bHLH, E12 et E47, par épissage alternatif. Ces protéines jouent un rôle essentiel dans le développement des lymphocytes T et B. *PBX1* est un gène de la famille Homeobox jouant un rôle critique dans la myélopoïèse. La fusion *TCF3-PBX1* est une anomalie qualitative qui aboutit à la perte du domaine de liaison à l'ADN, remplacé par celui de *PBX1* (homéodomaine). Le domaine de transactivation de *TCF3* est indispensable à la transformation. Les événements secondaires sont principalement constitués par la délétion de *PAX5*, dans 42 % des cas.

Dans 10 % des cas, le gène *TCF3* n'est pas réarrangé en FISH, il s'agit alors le plus souvent d'une anomalie de type secondaire dans une LAL avec grande hyperdiploïdie ou t(9;22) [8]. Une autre translocation impliquant *TCF3*, t(17;19)(q22;p13), a été identifiée dans de très rares cas de LAL-B de l'enfant, conduisant à une fusion *TCF3-HLF*. Il s'agit d'une entité associée à une hypercalcémie et/ou à une coagulation intra-vasculaire disséminée au diagnostic et à un très mauvais pronostic ([9] et références incluses).

Translocation t(5;14)(q31;q32), IGH-IL3

Cette entité exceptionnelle est pourtant répertoriée par l'OMS [1], sans doute en raison de sa très forte

hyperéosinophilie liée à une hyperexpression du gène de l'IL3 (localisé en 5q31), facteur de croissance de la lignée éosinophile, placé sous le contrôle du puissant activateur (*enhancer*) du gène *IGH*. L'hyperéosinophilie majeure peut masquer le diagnostic de LAL-B, d'autant plus que la maladie peut se présenter sous forme de lymphome lymphoblastique, et celui de la t(5;14) en raison de la prolifération préférentielle des précurseurs éosinophiles réactionnels.

LAL-B avec anomalies du nombre de chromosomes (anomalies de la ploïdie)

Hyperdiploïdie (51 à 65 chromosomes)

L'entité OMS « hyperdiploïdie » correspond à l'hyperdiploïdie élevée, de 51 à 65 chromosomes. Ce nombre modal peut s'étendre jusqu'à 67. En revanche, l'hyperdiploïdie de 47 à 50 chromosomes n'est pas répertoriée par l'OMS car elle est souvent associée à des anomalies de structure et n'a pas de valeur pronostique *per se*. L'hyperdiploïdie 51-65 chromosomes est retrouvée dans 25 % des LAL de l'enfant (absente chez le nourrisson) et 7 % de celles de l'adulte. Le nombre modal le plus fréquent est à 54-55 chromosomes, ce qui correspond à un index d'ADN de 1,2 [10]. Les trisomies observées ne sont pas aléatoires et touchent préférentiellement les chromosomes 4, 6, 10, 14, 17, 18 et 21 ainsi que le chromosome X. Le pronostic associé à cette hyperdiploïdie est très favorable avec, chez l'enfant, un taux de guérison supérieur à 90 %, en particulier si le nombre modal est supérieur ou égal à 54, soit un index d'ADN > 1,16 et/ou si l'on retrouve les trisomies 4, 10, 17 et 18 ([11] et références incluses). La sensibilité particulière des blastes de cette entité au méthotrexate (antifolique utilisé dans la chimiothérapie des LAL) est l'une des explications de ce bon pronostic. Une récente publication du groupe EORTC a confirmé ces données et a montré la supériorité du caryotype sur l'index d'ADN et l'excellent pronostic des LAL hyperdiploïdes à partir de 58 chromosomes [11]. Il peut exister des anomalies clonales additionnelles (ACA), anomalies de structure au sein d'un caryotype hyperdiploïde : il convient d'éliminer la présence d'un chromosome Philadelphie, caractéristique de l'entité LAL Ph (cf supra). En dehors du Ph, la valeur pronostique des ACA n'a pas été démontrée. Toutefois, la présence d'un isochromosome 17q à la rechute a été décrite comme un facteur pronostique défavorable. La présence d'une délétion *IKZF1* est rare : elle n'a pas de valeur pronostique au sein de cette entité [6]. Le mécanisme oncogénique sous-jacent est inconnu, mais la rareté des ACA et des anomalies moléculaires suggère une anomalie de l'appareil mitotique et le fait que les chromosomes surnuméraires ne sont pas aléatoires suggère un mécanisme quantitatif entraînant un avantage de sélection [12].

Hypodiploïdie (23 à 43 chromosomes) avec ou sans duplication du clone hypodiploïde

Stricto sensu, l'hypodiploïdie s'applique à tout caryotype comportant moins de 46 chromosomes. Cependant, l'OMS ne considère l'hypodiploïdie qu'à partir de 43 chromosomes car elle est associée à un pronostic très défavorable, alors que l'hypodiploïdie 44-45 chromosomes n'a pas de valeur pronostique *per se*, sauf s'il existe une monosomie 7, facteur associé à un pronostic défavorable chez l'enfant ([13] et références incluses). L'hypodiploïdie de 23 à 43 chromosomes est rare, concernant de 1 à 5 % des patients enfants et adultes. On distingue la quasi-haploïdie (23 à 29 chromosomes) [13] et l'hypodiploïdie sévère (30-39 chromosomes) [13-15], toutes deux de pronostic très défavorable. Les profils chromosomiques ne sont pas aléatoires : la monosomie 7 est constante dans ce groupe d'entité. Les hypodiploïdies peuvent être masquées en raison d'une endoreduplication des chromosomes au sein du clone, conduisant pour les hypodiploïdies sévères à une quasi-triploïdie (60-78 chromosomes), regroupées sous le terme hypodiploïdie sévère/quasi-triploïdie (Ho-Tr) et pour la quasi-haploïdie à une hyperdiploïdie (50-58 chromosomes). Le sous-clone dupliqué peut être le seul identifié par le caryotype, posant un problème de diagnostic différentiel avec une grande hyperdiploïdie, de pronostic totalement différent. L'étude du profil chromosomique observé sur le caryotype, qui montre l'association de disomies des chromosomes préférentiellement perdus (chromosomes 3 et 7 en particulier) et de tétrasomies de ceux qui n'ont pas été perdus (chromosomes 1 et 6 pour l'entité Ho-Tr, chromosomes 14 et 18 pour l'entité quasi-haploïdie), ainsi que l'étude de l'index d'ADN, qui montre l'existence des 2 sous-clones dont l'un est la duplication de l'autre, sont alors d'une aide très précieuse [10, 14]. Ce mécanisme de formation du clone quasi-triploïde caractérisé par la présence de tétrasomies et de disomies a conduit des auteurs à évoquer le terme d'hypodiploïdie-hypotétraploïdie pour caractériser cette entité [16]. La fréquence de mutations du gène *TP53*, localisé en 17p13, a été récemment décrite dans cette entité qui présente le plus souvent la perte d'un chromosome 17 [16, 17]. Certaines formes de l'enfant présentent cette mutation sous sa forme germinale dans le cadre d'un syndrome de Li-Fraumeni [17]. L'implication de la voie mTOR dans les hypodiploïdies ouvre une perspective thérapeutique avec des inhibiteurs de type Rapamycine [17].

LAL-B sans anomalie cytogénétique caractéristique (classification OMS 2008)

La classification OMS s'est arrêtée aux principales anomalies cytogénétiques. Il existe cependant d'autres anomalies récurrentes récemment identifiées et donc non répertoriées par l'OMS qui ont un impact pronostique,

comme l'amplification du chromosome 21 (iAMP21), la *t(17;19)/TCF3-HLF* ou les réarrangements de *CRLF2* [2]. De plus, environ 25 % des LAL B présentent un caryotype sans évidence cytogénétique ou moléculaire d'anomalie de type primaire : un caryotype normal ou des anomalies de type secondaire, de nombre (+X, +21) ou de structure (délétions 6q, 9p, 12p). Chez l'adulte, l'association d'au moins 5 de ces anomalies dans un caryotype de LAL définit un caryotype complexe, retrouvé dans 5 % des LAL-B et associé à un pronostic défavorable [15] ; l'utilisation d'un protocole intensifié de type pédiatrique pourrait gommer cet impact pronostique [18]. Au-delà de la présentation cytogénétique, des progrès moléculaires récents ont permis d'individualiser de nouvelles anomalies associées ou non aux anomalies décrites ci-dessus, comme les délétions et mutations d'*IKZF1*, et des réarrangements ou des mutations dans des gènes à activité tyrosine kinase comme le gène *JAK2* dans le cadre de LAL présentant un profil de type Ph-like (ou *BCR-ABL1* like) [2, 19].

Amplification intra-chromosomique du chromosome 21 : iAMP21

La FISH *ETV6-RUNX1* utilisée au diagnostic des LAL-B de l'enfant peut mettre évidence une entité de pronostic défavorable, caractérisée par une amplification intra-chromosomique du chromosome 21 (iAMP21), anomalie rare entraînant une augmentation du nombre de copies (amplification) du gène *RUNX1*, sur ce chromosome 21 qui apparaît le plus souvent anormal au caryotype : au moins 3 copies supplémentaires regroupées sur un chromosome 21 anormal (avec très souvent délétion de séquences subtélomériques 21q). Ces formes plus souvent retrouvées chez le grand enfant (âge médian, 9 ans), dans des cas non hyperleucocytaires, sont parfois associées à des translocations robertsoniennes et la formation de cette amplification fait intervenir un mécanisme de type chromothrypsis (« catastrophe » chromosomique). Le pronostic est nettement amélioré si l'on utilise un traitement de type haut-risque ([20] et références incluses).

Réarrangement du locus IGH (14q32)

À côté de l'exceptionnelle translocation *t(5;14)(q31;q32)/IL3-IGH*, d'autres translocations impliquant le locus *IGH* (chaîne lourde des immunoglobulines) ont été récemment décrites avec une dizaine d'autres gènes partenaires, en particulier les gènes de la famille *CEBP*, de récepteurs de cytokine comme le récepteur de l'EPO ou *CRLF2*, ou de micro-ARN comme *miR125B*, dont l'expression se trouve ainsi augmentée [21]. En particulier, le gène *CRLF2* (*cytokine receptor-like factor 2*, également appelé *TSLPR* : *thymic stromal lymphopoietin receptor*) code pour une cytokine exprimée dans les monocytes et les lymphocytes T. Localisé dans la région pseudo-autosomique des chromosomes X et Y, ce gène est impliqué via 2 translocations

cryptiques très rares, t(X;14)(p22;q32) et t(Y;14)(p11;q32), le mettant au contact des éléments de régulation d'*IGH*. Mais son expression peut également augmenter via une autre anomalie cryptique, délétion (X)(p22p22) superposant le premier exon non codant de *P2RY8* avec la phase codante de *CRLF2*. Ces remaniements conduisent à une expression aberrante de *CRLF2* sous sa forme normale. Cette anomalie est principalement associée aux LAL-B des enfants atteints de trisomie 21 (53 % de ces cas) et plus rarement sporadiques (7 %). Ces réarrangements sont fréquemment associés aux mutations de *JAK2* et aux délétions d'*IKZF1* et à un pronostic intermédiaire à défavorable [19, 22].

Délétions et mutations *IKZF1*(7p12)

Les délétions d'*IKZF1* (Ikaros) ont été identifiées par l'utilisation d'outils d'hybridation génomique comparative (CGH) à haute résolution dans les LAL de l'enfant. *IKZF1* code pour un facteur de transcription essentiel à la différenciation hématopoïétique B. Les délétions de ce gène, totales ou partielles, sont très fréquemment associées à la fusion *BCR-ABL1* dans le développement des LAL de la lignée B (84 % des LAL-B *BCR-ABL1+*, *IKZF1* restant totalement normal dans les phases chroniques de leucémie myéloïde chronique). Elles sont moins fréquentes dans les LAL-B *BCR-ABL1* négatives, de l'ordre de 20 % mais fréquentes dans les LAL de type Ph-like et/ou avec hyperexpression de *CRLF2* [19]. Ces délétions ont pour conséquence une haplo-insuffisance par délétion totale ou l'expression d'une forme dominante-négative par délétion partielle. Il semble que ces délétions représentent un risque élevé de rechute, que la délétion soit totale ou partielle [2, 19]. Une association entre les délétions *IKZF1* et les délétions du gène *ERG*, a été récemment rapportée dans des LAL-B sans anomalie récurrente : ces formes ne sont pas associées avec un pronostic défavorable [23]. Il faut noter également que le bon pronostic des anomalies cytogénétiques de type primaire telles que l'hyperdiploïdie élevée ou les t(12;21)/*ETV6-RUNX1* ne semble pas affecté par les délétions *IKZF1* [6].

LAL Ph-like ou *BCR-ABL1*-like

Cette entité a été récemment identifiée par son profil d'expression proche de celui des LAL Ph positive [2, 19]. Elle représente 10 à 15 % des LAL de l'enfant, 20 % des LAL de l'adolescent et 25 % des LAL du jeune adulte. Elle est associée à un pronostic défavorable mais la possibilité d'utiliser des traitements de type ITK pourrait modifier ce pronostic. En effet, des gènes à activité TK sont activés soit par réarrangements (possibilité de détection par FISH) soit par mutation. On peut distinguer 6 sous entités au sein des LAL Ph-like [2] :

1) Les LAL avec réarrangements de type *ABL1* : ces réarrangements impliquent les gènes *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB* et

CSF1R avec préservation de la partie 3' kinase de ces gènes via la fusion avec un autre gène partenaire.

2) Les LAL avec réarrangements *EPOR* : *EPOR* est transloqué à proximité de l'enhancer des gènes *IGH* ou *IGK* et voit son expression dérégulée ;

3) Les LAL avec réarrangements *JAK2* : la partie 3' kinase de *JAK2* est préservée via la fusion avec une dizaine de gènes partenaires.

4) Les LAL avec réarrangements *CRLF2* : observés dans la moitié des cas de LAL Ph-like et souvent accompagnés de mutations de *JAK1* ou *JAK2* qui activent la voie JAK/STAT.

5) Les LAL avec réarrangements sporadiques de gènes tyrosine kinase (TK) : un ou quelques cas décrits comme ceux impliquant le gène *NTRK3* (réarrangé dans d'autres tumeurs)

6) Les LAL avec mutations de la voie RAS : mutations des gènes *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11* et *NF1*. Ces mutations sont également retrouvées dans d'autres entités comme les LAL hyperdiploïdes et les LAL avec réarrangement *MLL*.

Des traitements *in vitro* mais également *in vivo* par ITK de type imatinib ou dasatinib sont efficaces dans les LAL avec réarrangements de type *ABL1* ; des traitements par ITK de type ruxolitinib sont efficaces *in vitro* et dans des modèles cliniques de xénogreffes dans les LAL avec réarrangements *EPOR/JAK2* [2].

Délétions, amplifications, mutations et translocations de *PAX5* (9p13)

L'étude détaillée du génome par CGH à haute résolution a révélé que *PAX5*, qui code un facteur de transcription dont la fonction est critique dans la différenciation lymphoïde B, était un gène muté ou anormal dans plus d'un tiers des LAL-B. Ces anomalies sont très variées. Elles consistent principalement en une délétion mono-allélique, soit totale, soit partielle, dans 30 % des LAL-B (la délétion bi-allélique est rare) et dans 60 % des cas de délétion 9p, des mutations ponctuelles (7 % des LAL-B) et plus rarement une amplification partielle, rare, ou des réarrangements 9p13, impliquant plus de 15 partenaires différents, comme les dicentriques (9;12)(p13;p13) qui fusionnent *PAX5* avec *ETV6* ou d'autres dicentriques comme les dic(9;20)(p13;q11) qui entraînent une délétion de *PAX5* ([2, 24] et références incluses). Les délétions et autres anomalies de *PAX5* n'ont pas de valeur pronostique dans les protocoles actuels [2, 6].

Anomalies chromosomiques et moléculaires associées aux LAL-T (tableau 2)

L'OMS 2008 n'a pas distingué d'entité génétique au sein des LAL-T, en raison de la difficulté à affirmer une valeur pronostique du fait de leur rareté. Actuellement, certaines anomalies récurrentes peuvent être prises en compte dans les protocoles thérapeutiques, en particulier les activations

Tableau 2. LAL-T principales anomalies cytogénétiques, fréquence et valeur pronostique*.

Pronostic relatif actuel	Gènes, transcrits (ancien nom, localisation)	Groupe d'âge (fréquence)	Caractéristiques cliniques et biologiques
Favorable t(10;14)(q24;q11) et t(7;10)(q34;q24)	<i>TCR A/D</i> (14q11) ou <i>TCRB</i> (7q34) et <i>TLX1</i> (<i>HOX11</i> , 10q24)	Enfant (7 %)/adulte (20 %)	LAL-T matures, association amp <i>ABL1</i>
Intermédiaire t(v;14q11) et t(7q34;v) en dehors de 10q24 (<i>TLX1</i>) et 8q24 (<i>MYC</i>) t(5;14)(q35;q32)** del(1)(p32p32) Amplification (amp) <i>ABL1</i> **	<i>TCR A/D</i> (14q11) ou <i>TCRB</i> (7q34) avec un autre gène <i>TLX3</i> (<i>HOX11L2</i> ,5q35) et <i>BCL11B</i> (14q32) <i>STIL</i> (<i>SIL</i>)- <i>TAL1</i> (1p32) <i>NUP214</i> (<i>CAN</i>)- <i>ABL1</i> (9q34)	Enfant (13 %)/adulte (15 %) Enfant (24 %)/adulte (13 %) Enfant (30 %)/adulte (10 %) Enfant (8 %)/adulte (8 %)	Association amp <i>ABL1</i> Fréquence diminue avec l'âge Anomalie secondaire à <i>TLX1</i> ou <i>TLX3</i> ; sensibilité aux ITK
t(11;19)(q23;p13.3) et t(6;11)(q27;q23)	<i>KMT2A</i> (<i>MLL</i> ,11q23)- <i>MLLT1</i> (<i>ENL</i> ,19p13) <i>KMT2A</i> (<i>MLL</i> ,11q23)- <i>MLLT4</i> (<i>AF6</i> ,6q27)	Enfant (10 %)/adulte (3 %)	
Défavorable Caryotype complexe	Au moins 5 anomalies chromosomiques non caractérisées	Adulte (7 %)	
t(10;11)(p12;q14)	<i>PICALM</i> (<i>CALM</i> ,11q14)- <i>MLLT10</i> (<i>AF10</i> , 10p12)	Enfant (6 %)/adulte (10 %)	LAL-T immatures
t(5;14)(q35;q32)** avec amp <i>ABL1</i> **	<i>TLX3</i> (<i>HOX11L2</i> ,5q35) et <i>BCL11B</i> (14q32) avec <i>NUP214</i> (<i>CAN</i>)- <i>ABL1</i> (9q34)	Enfant (5 %)/adulte (3 %)	
Délétion 17p t(v;8q24)	<i>TP53</i> (17p13) Réarrangement <i>MYC</i> (8q24)	Adulte (3 %) Enfant (6 %)/adulte (6 %)	Anomalie secondaire Anomalie primaire ou secondaire ; trisomies 6 ou 7; mutations <i>PTEN</i>

* Les nouvelles stratifications thérapeutiques prennent en compte les mutations *NOTCH1* ou *FBXW7*, présentes dans 50 % des LAL-T (adulte ou enfant) et associées à un pronostic favorable ; ce pronostic peut être modulé par la recherche de mutations *RAS* ou *PTEN* (pronostic défavorable) ; ** Anomalie cryptique détectée par FISH ou PCR.

d'*ABL1* [25] et les mutations ponctuelles *NOTCH1*, *FBXW7* mais aussi, chez l'adulte celles des gènes *RAS* et *PTEN* [26, 27]. Les anomalies cytogénétiques observées dans les LAL-T (pour revue voir [28, 29]) sont principalement des anomalies de structure ; les anomalies de nombre, comme la tétraploïdie, liée le plus souvent à une endoreduplication d'un clone avec une anomalie spécifique ou non, et observée dans 5 % des cas, n'ont pas de valeur pronostique avérée en dehors d'exceptionnels cas d'hypodiploïdie à moins de 44 chromosomes, de pronostic défavorable [13]. Les anomalies de structure observées dans les LAL-T contrastent avec celles identifiées dans les LAL-B. En effet, on retrouve une majorité de réarrangements impliquant les locus du TCR, comme *TCRA/D* (bande 14q11) ou *TCRB* (bande 7q34), secondaires à un accident de recombinaison VDJ des TCR. En conséquence, les gènes mis à proximité des séquences activatrices des gènes *TCR* sont surexprimés et/ou exprimés dans des tissus dans lesquels ils ne s'expriment pas à

l'état physiologique. On peut retrouver également des anomalies de structure entraînant des anomalies quantitatives, comme la t(5;14)(q35;q32) entraînant l'hyperexpression du gène *TLX3*, et des gènes de fusion impliquant *MLL* ou *ABL1* avec, dans ce dernier cas, une possibilité de thérapeutique ciblée [25].

LAL-T avec anomalies quantitatives : réarrangements des gènes du TCR

Translocation t(1;14)(p32;q11), surexpression de TAL1

Cette translocation t(1;14)(p32;q11) ou sa variante t(1;7)(p32;q34) est rare (1 à 3 % des LAL-T). Elle conduit à l'expression aberrante dans la lignée lymphoïde de *TAL1*, facteur de transcription essentiel de la différenciation hématopoïétique. À côté de ces translocations, il existe un réarrangement sur le bras court du chromosome 1, del(1)(p32p32), conduisant à une délétion de 90 kb entre la phase codante de *TAL1* et le promoteur du gène *STIL* (*SIL*),

situé en amont. Ce réarrangement *STIL-TAL1* est retrouvé dans 15 à 30 % des LAL-T selon les études, mais n'a pas de valeur pronostique dans les protocoles actuels ([28, 29] et références incluses).

Translocation t(10;14)(q24;q11), surexpression TLX1

Cette translocation et sa variante *t(7;10)(q34;q24)* conduisent à l'expression aberrante d'une protéine de la famille *Homeobox*, *TLX1 (HOX11)*. Elles sont retrouvées dans 7 % des LAL-T de l'enfant et 20 % de l'adulte et associées à un pronostic favorable. Elles présentent une fréquence élevée d'ACA de nombre probablement en raison de l'action de *TLX1* sur les gènes qui contrôlent l'appareil mitotique [30]. Parmi les ACA de structure, l'amplification *NUP214-ABL1* est une anomalie cryptique caractéristique des LAL-T *TLX1* ou *TLX3* [25, 29, 31].

Translocation t(5;14)(q35;q32), surexpression TLX3

Cette anomalie cryptique décelable par FISH est à rapprocher des LAL avec réarrangement des gènes *TCR* car elle entraîne l'hyperexpression d'un gène de la famille *Homeobox* *TLX3 (HOX11L2)* localisé en 5q35 et placé sous le contrôle d'une région régulatrice située en 14q32, en 3' du gène *BCL11B*. Elle est retrouvée dans 20 % des LAL-T de l'enfant et 10 % de l'adulte. Sa valeur pronostique serait défavorable si elle est associée à l'amplification *NUP214-ABL1* [18, 32]. À noter que le gène *BCL11B* est retrouvé muté dans 10 % des LAL-T mais sans valeur pronostique avérée ([29] et références incluses).

Inversion (7)(p15q34) et translocation(7;7)(p15;q34), surexpression HOXA

Ces anomalies conduisent à l'expression aberrante de gènes *Homeobox* de la famille *HOXA*, principalement *HOXA9*, situés en 7p15 qui se retrouvent à proximité de l'enhancer du *TCRB*. Elles sont retrouvées dans 5 % des LAL T et n'ont pas de valeur pronostique établie ([33] et références incluses).

Translocations t(11;14)(p15;q11), surexpression LMO1 et t(11;14)(p13;q11), surexpression LMO2

Ces translocations rares dont la valeur pronostique n'a pas été établie impliquent toutes deux le bras court du chromosome 11 ; elles conduisent à l'expression aberrante de deux protéines de la famille LMO, *LMO1* et *LMO2*. Ces réarrangements sont fréquemment associés à l'activation de *TAL1*. Des anomalies chromosomiques cryptiques comme la *del(11)(p13p13)* entraînant l'hyperexpression de *LMO2* ont été décrites, ce qui porte la fréquence des remaniements impliquant *LMO2* à 20 % des LAL-T pédiatriques [29, 34].

Translocation(6;7)(q23;q34), surexpression MYB

Dans cette translocation rare (3 % des LAL-T) retrouvée plus particulièrement chez l'enfant de moins de 2 ans,

l'oncogène facteur de transcription *MYB* et transloqué et hyperexprimé ; par ailleurs ce gène est remanié sous forme de duplication cryptique dans 10 % des LAL-T [35].

Translocation(7;9)(q34;q34), surexpression NOTCH1

Cette translocation très rare qui entraîne l'hyperexpression du gène *NOTCH1* a permis d'identifier ce gène qui se retrouve muté dans 50 % des LAL-T de l'enfant et de l'adulte : ces mutations sont associées à des formes de bon pronostic [26, 27].

Translocation t(8;14)(q24;q11), surexpression MYC

Dans cette translocation, retrouvée dans 3 % des LAL-T de l'enfant et de l'adulte, *MYC* est transloqué et hyperexprimé. D'autres translocations entraînant l'hyperexpression de *MYC* sont retrouvées à égale fréquence si l'on utilise des techniques de FISH. Ces anomalies sont retrouvées dans la moitié des cas dans des sous-clones, en particulier dans les formes avec trisomie 6 ou 7 qui surexpriment *TAL1* ou *LMO*, et sont associées à un risque élevé de rechute où ces sous-clones deviennent majoritaires suggérant un aspect agressif lié à ces anomalies [36]. À noter que le gène *MYC* est une cible pour la protéine *NOTCH1* par un mécanisme indirect récemment décrit [2, 37].

LAL-T avec anomalies quantitatives : gènes de fusion

Amplification ABL1/NUP214-ABL1

Les LAL-T Philadelphie positives avec réarrangement de *BCR-ABL1* sont exceptionnelles mais à rechercher en raison de la possibilité de traitement par ITK. Cependant d'autres mécanismes moléculaires conduisent à une expression aberrante d'*ABL1* (6 % des LAL-T), principalement sous forme d'épisomes qui entraînent la formation d'un gène de fusion *NUP214-ABL1* qui est amplifié et code une protéine à activité tyrosine kinase. Ce réarrangement est quasiment exclusivement retrouvé en tant qu'anomalie de type secondaire, dans les LAL-T avec réarrangement de *TLX1* ou *TLX3* [25, 31]. La détection de ce réarrangement est donc indispensable par FISH et/ou PCR, en raison de la possibilité d'ajouter un inhibiteur de tyrosine kinase, comme l'imatinib. D'autres anomalies cryptiques beaucoup plus rares activent *ABL1* : la *t(9;12)(q34;p13)/ETV6-ABL1*, et la *t(9;14)(q34;q32)/EML1-ABL1*, qui peut se substituer à *NUP214-ABL1* lors de l'évolution de la maladie [25]. À noter l'existence de LAL-T avec un remaniement cryptique *del(9)(q34q34)* ou *t(9;9)(q34;q34)* avec fusion *SET-NUP214* entraînant une hyperexpression de *HOXA* [38] ; elles sont retrouvées dans 6 % des LAL-T de l'adulte où elles sont associées avec cortico- et chimiorésistance mais sans impact sur la survie [39].

Translocation $t(v;11q23)$, réarrangement *MLL*

Les réarrangements de *MLL* sont retrouvés dans 8 % des LAL-T [4, 30, 31]. Les principaux partenaires de *MLL* sont dans ce cas *MLLT1* (*ENL*), via la $t(11;19)(q23;p13.3)$, et *MLLT4* (*AF6*), via la $t(6;11)(q27;q23)$. Dans le cas des LAL-T, le pronostic de ces translocations est intermédiaire. Elles entraînent, elles aussi, l'hyperexpression des gènes du cluster *HOXA* [29].

Translocation $t(10;11)(p13;q14)$, fusion *PICALM-MLLT10* (*CALM-AF10*)

Cette translocation est retrouvée dans 4 à 8 % des LAL-T de l'enfant et 10 % de l'adulte, le plus souvent détectée par FISH et/ou PCR. Elle entraîne, elle aussi, l'hyperexpression des gènes du cluster *HOXA* mais ici le pronostic est défavorable, en particulier dans les formes immatures de LAL-T (TI et TII de l'EGIL), ce qui est le cas le plus fréquent en particulier chez l'adulte. Elle est retrouvée également dans un faible pourcentage de leucémies aiguës myéloïdes de pronostic défavorable et comportant fréquemment un réarrangement aberrant du récepteur T suggérant la transformation d'un progéniteur hématopoïétique multipotent [40].

LAL-T sans anomalie cytogénétique caractéristique

De même que pour les LAL-B, on peut observer dans 25 % des cas des caryotypes normaux ou présentant des anomalies non spécifiques sans valeur pronostique, sauf si elles sont associées pour former un caryotype complexe (9 % des LAL-T) de valeur pronostique défavorable chez l'adulte [15, 18, 41]. Ces anomalies de type secondaire sont des anomalies de la ploïdie (hyperdiploïdie 47-50, hypodiploïdie 44-45, tétraploïdie) ou de structure (délétions 6q ou 9p). La délétion 9p est particulièrement fréquente dans les LAL-T de l'enfant (70 % des cas) le plus souvent à l'état cryptique, pouvant être mise en évidence par FISH ; elle implique *CDKN2A*, gène mis en jeu dans le contrôle du cycle cellulaire. Une forme particulièrement agressive de LAL-T, ETP (*early T-cell precursor*) a été récemment identifiée par son profil particulier aussi bien sur le plan immunologique par l'expression aberrante de marqueurs myéloïdes que par son profil d'expression génique proche de celui des cellules souches hématopoïétiques ou des progéniteurs myéloïdes et des mutations ou délétions de *RUNX1* ou de *GATA3* ou de la voie JAK/STAT ce qui suggère des possibilités thérapeutiques avec des inhibiteurs de cette voie [2, 42].

Enfin, dans les LAL-T, qu'il existe ou non une anomalie caractéristique, il est important d'identifier les mutations de *NOTCH1* et/ou de *FBXW7* car elles sont retrouvées dans près de la moitié des cas et associées à un pronostic favorable, surtout en l'absence de mutations *PTEN* ou *RAS* [27].

Recommandations du GFCH pour la prise en charge cytogénétique

Les recommandations du GFCH pour les analyses cytogénétiques sont basées sur les connaissances de la littérature, rappelées dans le chapitre précédent, en particulier les connaissances sur les entités cytogénétiques et moléculaires [2, 28, 29, 43–46] et les connaissances sur les résultats des protocoles multicentriques nationaux et internationaux. Les recommandations pour la prise en charge cytogénétique des LAL au diagnostic sont donc basées sur :

- le diagnostic de LAL établi lors du diagnostic (myélogramme et immunophénotype) ainsi que le phénotype B ou T de la LAL établi selon les critères de l'EGIL [47] ; le phénotype peut par ailleurs orienter vers une anomalie cytogénétique (phénotype pro-B, CD10 négatif dans les LAL-B avec réarrangement *MLL*) ;
- la fréquence des anomalies cytogénétiques clonales mises en évidence par le caryotype et par l'analyse FISH et leur répartition selon l'âge chez l'enfant et chez l'adulte dans les LAL-B (*tableau 1*) et T (*tableau 2*) ;
- la valeur pronostique indépendante de certaines de ces anomalies qui rend le caryotype (et parfois la FISH) indispensable avant la mise en route du traitement car ces anomalies conditionnent la thérapeutique (anomalies "décisionnelles"). Il faut distinguer les anomalies de haut risque (pronostic défavorable) et les anomalies de faible risque (pronostic favorable) qui déterminent l'inclusion des patients dans des bras thérapeutiques différents. De plus, les recommandations pour la prise en charge cytogénétique tiennent compte :
- de l'existence d'anomalies cryptiques, invisibles au caryotype conventionnel mais identifiables par FISH (ou par RT-PCR) comme la $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ présente dans 25 % des LAL-B de l'enfant ou la $t(5;14)(q35;q32)/BCL11B-TLX3$ présente dans 20 % des LAL-T de l'enfant ;
- du faible index mitotique des blastes de LAL qui peut conduire à des échecs de caryotype ou à des caryotypes faussement normaux dus à un avantage prolifératif des cellules normales présentes dans le prélèvement ;
- de la possibilité de compléter les caryotypes peu ou pas informatifs par des techniques moléculaires comme la FISH ou la RT-PCR ;
- de la possibilité de détecter une grande partie des aneuploïdies décisionnelles (haploïdie, hypodiploïdies sévères-paratriploïdie et hyperdiploïdie > 50) par cytométrie en flux (quantification d'ADN donnant l'index ADN) ou par CGH array (avec une sensibilité moindre que celle de l'index d'ADN) ;
- de l'existence d'anomalies parfois difficiles à détecter sur des caryotypes de qualité suboptimale telles que certaines translocations impliquant 11q23 (gène *MLL*) d'autant plus

Tableau 3. Recommandations du GFCH pour la prise en charge cytogénétique des LAL-B au diagnostic en dehors des LA type Burkitt*.

Caryotype informatif	Caryotype non informatif	Caryotype informatif mais anomalies non spécifiques
t(9;22)(q34;q11) ou Ph/ <i>BCR-ABL1</i> t(4;11)(q21;q23)/ <i>MLL-AF4 (AFF1)</i> t(1;19)(q23;p13)/ <i>E2A(TCF3)-PBX1</i> t(17;19)(q22;p13)/ <i>TCF3-HLF</i> hyperdiploïdie > 50 avec profil typique hypodiploïdie 30-39/paratriploïdie 60-78 parahaploïdie 23-29 chromosomes	Normal ou échec <i>Si possible demander un nouveau prélèvement pour caryotype</i>	Anomalies de type secondaire : 6q-, 9p-, 12p-... hypodiploïdie 41-45, hyperdiploïdie 47-50, tétraploïdie... hyperdiploïdie > 50 mais avec profil atypique remaniements de structure non spécifiques points de cassure évocateurs d'une translocation variante, anomalie de structure du 21 évocatrice d'une iAMP21
FISH (1) obligatoire <i>BCR-ABL1</i> <i>E2A(TCF3)-HLF</i> si t(17;19)(q22;p13) FISH recommandée <i>MLL(KMT2A)</i> si t(v;11q23) <i>E2A(TCF3)-PBX1</i> si t(1;19)(q23;p13)	FISH (1) obligatoire <i>BCR-ABL1</i> (2) ; <i>MLL (KMT2A)</i> (3) ; <i>TEL(ETV6)-AML1(RUNX1)</i> (4) ; iAMP21 (4) ; (<i>E2A</i>) <i>TCF3-HLF</i> (5) FISH recommandée Si échec ou doute sur 19p : <i>E2A(TCF3)-PBX1</i> (5) <i>IGH</i> et si doute sur 8q24 : <i>MYC</i> (6) ; <i>PDGFRB</i> (7) FISH optionnelle <i>CSF1R</i> ; <i>JAK2</i> ; <i>EPOR</i> ; <i>ABL2</i> (7) ; <i>CRLF2</i> ; <i>P2RY8</i> (8)	

*Caryotype sur moelle obligatoire au diagnostic et à la rechute ; caryotype sur sang en complément si blastose sanguine. **1.** FISH ou autre technique informative (selon l'organisation locale) ciblée sur les anomalies sous-citées avec ordre de réalisation en fonction de la qualité du caryotype, des anomalies décelées, de l'âge du patient, de l'immunophénotype de la LAL ; si possible, confirmer une anomalie décisionnelle par 2 techniques. **2.** *BCR-ABL1* : très fréquente chez l'adulte, indication d'ITK ; la FISH *BCR-ABL* peut permettre également de détecter des LAL-Ph like impliquant *BCR* ou *ABL*. **3.** *MLL(KMT2A)* : FISH permet de déceler tous les remaniements *MLL* ; RT-PCR systématique : *MLL-AF4 (AFF1)*. **4.** *TEL(ETV6)-AML1(RUNX1)* : anomalie cryptique ; diagnostic obligatoire chez patients d'âge < 25 ans ; FISH *TEL(ETV6)-AML1(RUNX1)* permet aussi la détection d'iAMP21 (au moins 3 copies supplémentaires de *RUNX1* regroupées sur un chromosome 21 anormal) et les gains de chr 21 associés aux hyperdiploïdies ou paratriploïdies : dans ce dernier cas compléter par index ADN et/ou FISH : - diagnostic hypodiploïdie 30-40/paratriploïdie : cen 7 (x1 dans clone hypo) avec cen1 ou cen6 (x4 dans clone paratriplo) ; (NB : cen 3 × 1 dans clone hypo) ; - diagnostic hyperdiploïdie > 50 vs paratriploïdie : sondes cen1 ou cen6 (x4 dans clone paratriplo) et cen4 ou cen17(x3 dans clone hyperdiplo) à combiner NB : détection monosomie 7 avec sondes du 7 (centromérique couplée si possible avec une sonde du 7q). **5.** *E2A(TCF3)-PBX1* : pour déceler les t(1;19)(q23;p13) ; la FISH *TCF3* peut aussi détecter les t(17;19)(q22;p13)/*TCF3-HLF* : LAL de l'enfant de haut risque. **6.** Réarrangements 14q32/*IGH* : si positif éliminer un réarrangement *IGH-MYC* qui peut révéler une LAL type Burkitt ; *MYC* peut aussi se réarranger avec *IGK* ou *IGL*. FISH *MYC* obligatoire si présence d'IG de surface à l'immunophénotype. Les réarrangements 14q32/*IGH*, peuvent être associés à des remaniements cryptiques de *CRLF2* et de gènes TK, dans le cadre de LAL Ph-like. **7.** Réarrangements de gènes TK, souvent cryptiques, dans le cadre de LAL Ph-like ; possibilité de traitement par ITK ; détection de réarrangements *BCR* ou *ABL* par sonde *BCR-ABL* double fusion. **8.** Réarrangements *CRLF2/P2RY8* (Xp22,Yp11) cryptiques et souvent associés à des mutations dans des gènes TK.

que parmi les remaniements *MLL*, seule la t(4;11)(q21;q23) est recherchée systématiquement par RT-PCR ;
– de l'existence d'anomalies de nombre ou de structure de type secondaire, c'est-à-dire le plus souvent associées à des anomalies de type primaire, le pronostic étant lié à l'anomalie de type primaire ; toutefois, certaines anomalies de type secondaire peuvent influencer la thérapeutique comme dans les LAL-T :

- l'amplification *ABL1* dont l'équivalent moléculaire est le gène de fusion *NUP214/ABL1* qui confère une sensibilité aux ITK (inhibiteurs de tyrosine kinase) ;
- l'association de plusieurs anomalies (au moins 5 anomalies) au sein d'un caryotype complexe sans anomalie spécifique, facteur qui reste de pronostic défavorable dans les LAL-T avec les thérapeutiques actuelles.

Ces recommandations sont consignées dans les *tableaux 3 et 4* pour les LAL B et T respectivement. Ces tableaux tiennent compte du caractère obligatoire du caryotype

et des résultats de ce dernier (informatif, non informatif ou peu informatif) pour établir les analyses FISH à réaliser en fonction des critères énoncés plus haut. On distingue des analyses FISH obligatoires (indispensables à réaliser car décisionnelles), recommandées (par la plupart des protocoles thérapeutiques actuels) et optionnelles (données très récentes de la littérature donc non validées par des études indépendantes ou anomalies fréquentes non décisionnelles mais qui peuvent servir de marqueur pour confirmer une rémission complète (cf fin de chapitre).

Dans tous les cas, l'étude du caryotype conventionnel est l'examen essentiel car il explore le génome entier, aussi bien pour les gains et les pertes que pour les remaniements chromosomiques. Les analyses cytogénétiques complémentaires doivent tenir compte de l'âge du patient, du phénotype de la LAL établi selon l'EGIL, de la fréquence des anomalies, de leur valeur pronostique et des possibilités

Tableau 4. Recommandations du GFCH pour la prise en charge cytogénétique des LAL-T au diagnostic*.

Caryotype informatif	Caryotype non informatif	Caryotype informatif mais anomalies non spécifiques***
t(9;22)(q34;q11)/ <i>BCR-ABL1</i> (1) t(v;14q11)/ <i>TCRAD</i> ; inv ou t(7q34;v)/ <i>TCRB</i> t(10;14)(q24;q11) ou t(7;10)(q34;q24)/ <i>TLX1</i> (2,1) t(10;11)(p12;q14)/ <i>PICALM-MLLT10</i> (3) t(v;11q23)/ <i>KMT2A (MLL)</i> (4)	Normal ou échec <i>Si possible, demander un nouveau prélèvement</i>	Anomalies de type secondaire : 6q-, 9p-, 12p-, 17p-, hypodiploïdie 41-45; hyperdiploïdie 47-50... Remaniements de structure non spécifiques Points de cassure évocateurs d'une translocation variante
FISH** obligatoire <i>BCR-ABL1</i> (1) ; <i>ampABL1/NUP214-ABL1</i> (1) FISH recommandée <i>KMT2A (MLL)</i> si t(v;11q) et, si négatif <i>PICALM/MLLT10</i>	FISH obligatoire <i>BCR-ABL1</i> (1) ; <i>ampABL1/NUP214-ABL1</i> (1) FISH recommandée <i>TLX3</i> (5,1) ; <i>TLX1</i> (2,1) ; <i>KMT2A (MLL)</i> (4) ; <i>PICALM-MLLT10</i> (3) ; <i>MYC</i> (6) FISH optionnelle <i>TP53</i> (7) ; <i>TCRB</i> ; <i>TCRA-D</i> ; <i>SIL-TAL1</i> (8) ; <i>CDKN2A/B</i> (9)	

*Le caryotype sur moelle est obligatoire au diagnostic et à la rechute ; si blastose circulante, un caryotype sur sang peut être réalisé en complément du caryotype sur moelle. **L'ordre des analyses FISH à réaliser est indicatif : il peut être modifié en fonction des disponibilités FISH ou autre technique informative dans chaque centre et des résultats du caryotype (qualité, anomalie suspectée...). Si possible diagnostic d'une anomalie décisionnelle ou avec valeur pronostique par 2 techniques différentes. (1) L'analyse FISH *BCR-ABL1* permet de rechercher une exceptionnelle LAL T *BCR-ABL1* positive ou une amplification *ABL1* qui correspond au transcrite *NUP214-ABL1* (indication d'ITK) et qui est associée aux formes *TLX1* et *TLX3*. Cette amplification *ABL1* est une anomalie de type secondaire donc parfois présente dans un sous-clone minoritaire difficile à déceler. (2) Pronostic favorable de la t(10;14)(q24;q11) et t(7;10)(q34;q24)/*TLX1*. (3) Pronostic défavorable de la t(10;11)(p12;q14)/*PICALM-MLLT10 (CALM-AF10)* surtout si LAL immature (T1 ou T2). (4) *KMT2A (MLL)* : valeur pronostique non établie dans les LAL-T mais anomalie primaire et pas de dépistage PCR. (5) Pronostic défavorable de la translocation cryptique t(5;14)(q35;q32)/*TLX3* si association avec *ampABL1/NUP214-ABL1*. (6) *MYC* : réarrangement du locus de type primaire comme t(8;14)(q24;q11) ou secondaire ; valeur pronostique défavorable ; pas de diagnostic PCR. (7) *TP53*^{del} : del(17p), anomalie de type secondaire associée à un pronostic défavorable dans les LAL T de l'adulte. (8) *SIL-TAL1* : pas de valeur pronostique mais anomalie de type primaire non identifiable au caryotype ; diagnostic PCR ou FISH (9) *CDKN2A/B*^{del} : del(9p), pas de valeur pronostique avérée mais anomalie de type secondaire très fréquente, souvent à l'état cryptique. ***NB : complexité ≥ 5 anomalies au caryotype, et absence d'anomalie spécifique : facteur défavorable dans les LAL-T de l'adulte.

techniques de chaque centre. L'hybridation in situ fluorescente (FISH) sur métaphases doit être considérée comme un complément et le recours à l'hybridation in situ sur noyaux interphasiques est à déconseiller comme seul examen cytogénétique à cause des difficultés d'interprétation des résultats.

Si le caryotype est informatif et repère les anomalies significatives pour le choix du traitement, le recours à la FISH n'est pas indispensable, compte tenu des autres examens pratiqués sauf s'il existe des discordances (par exemple RT-PCR négative pour *BCR/ABL1* alors qu'il existe un chromosome Ph dans le caryotype conventionnel) ou si des anomalies de type secondaire cryptiques peuvent être prises en compte dans la prise en charge thérapeutique (indication d'ITK pour l'amplification *ABL1* dans les LAL-T). Par ailleurs, dans la mesure du possible, il est souhaitable de valider une anomalie décisionnelle par 2 techniques différentes (par exemple caryotype et FISH ou caryotype et RT-PCR pour le diagnostic de LAL Ph positive).

Si le caryotype est non informatif car normal ou en échec, les techniques de FISH à mettre en œuvre doivent tenir compte des données clinico-biologiques du patient (ainsi

que des éventuels résultats disponibles (index ADN, RT-PCR). La FISH permet de rechercher/valider la présence d'un réarrangement parfois non détecté sur le caryotype car présent dans un clone minoritaire peu proliférant (comme *BCR-ABL1* dans les LAL-B). De même la recherche d'un remaniement de *MLL* pour détecter une translocation t(4;11) ou une autre translocation impliquant *MLL* devient indispensable dans les LAL-B. Les discordances caryotype/cytométrie en flux (CMF) doivent aussi être contrôlées par FISH. Les techniques FISH permettent de confirmer l'existence d'une aneuploïdie (soit hyperdiploïdie > 50, soit hypodiploïdie sévère/quasi-triploïdie, soit quasi-haploïdie) décelée par CMF ou par CGH-array.

Si le caryotype est informatif mais ne détecte pas d'anomalie spécifique majeure (6q-, 9p-, 12p-, translocation inhabituelle), la recherche par FISH d'anomalie de structure stratifiante ou décisionnelle est recommandée. Dans les LAL-B, elle est indispensable si on a des arguments pour penser à la possibilité d'une translocation Ph+ variante ou d'une translocation variante impliquant *MLL* ou d'une anomalie cryptique sous-jacente, comme *ETV6/RUNX1* chez l'enfant.

Dans les LAL-B (*tableau 1*), les anomalies de pronostic défavorable déterminantes pour le choix thérapeutique sont :

- la translocation t(9;22)(q34;q11)/*BCR-ABL1* ou chromosome Philadelphie (Ph) qui est l'indication d'un traitement basé sur les ITK de type imatinib ;
- la translocation t(4;11)(q21;q23)/*MLL-AFF1* et autres anomalies MLL ;
- la translocation t(17;19)(q22;p13)/*TCF3-HLF* ;
- les hypodiploïdies à moins de 44 chromosomes :
 - para-haploïdie (24-29 chromosomes) ;
 - l'hypodiploïdie sévère (30-39 chromosomes)/paratriploïdie (64-79 chromosomes) ;
 - l'hypodiploïdie à 41-43 chromosomes ;
- l'amplification intra-chromosomique du 21 ou *iAMP21* dont le pronostic est toutefois grandement amélioré si l'on applique un traitement de type intensifié.

Les anomalies de bon pronostic, prédictives d'une bonne réponse thérapeutique, déterminent l'inclusion dans un bras thérapeutique allégé dans certains protocoles de l'enfant :

- l'hyperdiploïdie > 50 avec profil standard de gains chromosomiques (+X,+4,+6,+10,+14,+17,+18,+21) ; les cas avec au moins 54 chromosomes étant considérés comme les plus favorables ;
- la t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* dans les LAL-B de l'enfant.

Les protocoles actuels tiennent également compte des délétions *IKZF1* (*Ikaros*) qui sont associées à un pronostic défavorable sauf si elles sont retrouvées dans des cas à cytogénétique favorable (hyperdiploïdie > 50 ou t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*) ou si elles sont associées à une délétion du gène *ERG* [23].

Dans les LAL-T (*tableau 2*), la valeur pronostique des anomalies cytogénétiques est moins clairement établie que dans les LAL-B.

Toutefois :

- la t(10;14)(q24;q11) ou sa variante t(7;10)(q34;q24) qui entraînent une surexpression de *TLX1* sont considérées comme de pronostic favorable ;
- la translocation t(10;11)(p13;q14), qui entraîne une fusion *PICALM-MLLT10* (*CALM-AF10*) est considérée comme de pronostic défavorable ;
- la t(5;14)(q35;q32)/*BCL11B-TLX3* est considérée comme de pronostic défavorable si elle est associée à une amplification *ABL1/NUP214-ABL1*.

Une partie des protocoles actuels tiennent également compte des mutations *NOTCH1* et/ou *FBXW7* qui sont associées à un pronostic favorable sauf si elles sont associées à une mutation des gènes *RAS* ou *PTEN*.

La cytogénétique ne s'applique pas pour le suivi de la maladie résiduelle (MRD) dans les LAL. Exceptionnellement, elle peut être réalisée :

- en cas d'absence de marqueur moléculaire ou immunophénotypique, pour confirmer la rémission complète dans les phases précoces du traitement (après l'induction) ;
 - ou pour lever le voile en cas de discordance entre ces 2 techniques de prédilection mais ce uniquement pour des valeurs élevées de MRD (supérieure ou égale à 10^{-2}).
- Mais la plus grande prudence s'impose dans la lecture et l'interprétation des noyaux interfasciques.

Lors de la rechute, le caryotype est recommandé ainsi que la FISH spécifique de l'anomalie trouvée lors du diagnostic (en cas d'anomalie cryptique). Certaines anomalies de type secondaire peuvent apparaître lors de la rechute : si elles ont une implication thérapeutique, il faut les rechercher (exemple : amplification *ABL1* ou autre anomalie *ABL1* dans les LAL-T *TLX1* ou *TLX3*). Plus rarement, des anomalies de type secondaire comme les délétions 9p ou 12p peuvent disparaître lors de la rechute car celle-ci survient dans un clone de type « ancestral » (qui préexistait à celui qui a émergé lors du diagnostic)

Moyens cytogénétiques à mettre en œuvre

Ils sont consignés dans le Guide des bonnes pratiques de cytogénétique disponible sur le site de l'ACLF (version 2014). On en rappelle ci-dessous les grandes lignes et les particularités.

Caryotype

Les particularités techniques pour optimiser les résultats de caryotype dans les LAL sont :

- Caryotype sur moelle indispensable avant tout traitement ;
- Le caryotype sur sang est possible si le prélèvement médullaire est impossible (fibrose médullaire importante) et s'il existe des blastes circulants en nombre suffisant ;
- Culture courte de 16 à 24h (J1) sans mitogènes ou facteurs de croissance ;
- Si possible 2 techniques : avec et sans synchronisation (car celle-ci peut gêner la prolifération des blastes, en raison des produits utilisés) [48] ;
- Délai de rendu de résultat rapide (si possible 7 jours maximum) afin de pouvoir être pris en compte dans les décisions thérapeutiques parfois très précoces (introduction d'ITK type imatinib dans les LAL Ph positives).

FISH

Complémentaire du caryotype, réalisée sur le culot cytogénétique.

Si ce culot est insuffisant, l'analyse FISH peut être réalisée sur des lames de frottis médullaire ou d'apposition

ganglionnaire ou des cytocentrifugations à partir de prélevement envahi. Toutefois, l'interprétation est beaucoup plus délicate en raison de l'absence de métaphases et des éventuelles déformations nucléaires liées au frottis ou à la cytocentrifugation.

Les sondes utilisées doivent être interprétables sur noyaux car, dans les LAL, le clone anormal a souvent un index mitotique très faible.

Pour la plupart des anomalies décisionnelles, il existe des sondes commerciales très fiables.

Pour les anomalies décisionnelles, il est souhaitable de rendre le résultat FISH dans les 7 jours. Afin de pallier un éventuel caryotype non informatif, on est parfois amené à programmer une analyse FISH en parallèle de l'établissement du caryotype (FISH *BCR/ABL1*).

Remerciements. Les auteurs remercient les docteurs Laurence Baranger, Carole Barin, Christiane Charrin, Pascale Cornillet-Lefebvre, Nicole Dastugue, Marina Lafage-Pochitaloff (coordonnatrice), Christine Perot, Bruce Poppe, Serge Romana, Frank Speleman, Pascaline Talmant et Sylvie Taviaux pour leur contribution lors de la parution de la première version de ces recommandations (*Pathol Biol (Paris)* 2004 ; 53). Les auteurs remercient également les docteurs Nicole Dastugue et Eric Delabesse pour leur soutien et leur apport scientifique.

Liens d'intérêts : Coordination de la cytogénétique dans les protocoles thérapeutiques LAL de l'enfant : CALLF01 (WC, MLP) et de l'adulte : GRAALL (LB, MLP). Conférence sur les LAL organisée par le laboratoire BMS (MLP). Les autres auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, *et al.* *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, fourth edition.* Lyon : IARC press, 2008.
2. Hunger SP, Mullighan CG. Redefining ALL classification : toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood* 2015 ; 125 : 3977-87.
3. Jaso J, Thomas DA, Cunningham K, Jorgensen JL, Kantarjian HM, Medeiros LJ, *et al.* Prognostic significance of immunophenotypic and karyotypic features of Philadelphia positive B-lymphoblastic leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitors. *Cancer* 2011 ; 117 : 4009-17.
4. Meyer C, Hofmann J, Burmeister T, Groger D, Park TS, Emerenciano M, *et al.* The MLL recombinome of acute leukemias in 2013. *Leukemia* 2013 ; 27 : 2165-76.
5. Raynaud SD, Dastugue N, Zoccola D, Shurtleff SA, Mathew S, Raimondi SC. Cytogenetic abnormalities associated with the t(12;21) : a collaborative study of 169 children with t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1999 ; 13 : 1325-30.

6. Moorman AV, Enshaei A, Schwab C, Wade R, Chilton L, Elliott A, *et al.* A novel integrated cytogenetic and genomic classification refines risk stratification in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014 ; 124 : 1434-44.
7. Greaves M, Colman SM, Kearney L, Ford AM. Fusion genes in cord blood. *Blood* 2011 ; 117 : 369-70.
8. Barber KE, Harrison CJ, Broadfield ZI, Stewart AR, Wright SL, Martineau M, *et al.* Molecular cytogenetic characterization of TCF3 (E2A)/19p13.3 rearrangements in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2007 ; 46 : 478-86.
9. Fischer U, Forster M, Rinaldi A, Risch T, Sungalee S, Warnatz HJ, *et al.* Genomics and drug profiling of fatal TCF3-HLF-positive acute lymphoblastic leukemia identifies recurrent mutation patterns and therapeutic options. *Nat Genet* 2015 ; 47 : 1020-9.
10. Rachieru-Sourisseau P, Baranger L, Dastugue N, Robert A, Genevieve F, Kuhlein E, *et al.* DNA Index in childhood acute lymphoblastic leukaemia : a karyotypic method to validate the flow cytometric measurement. *Int J Lab Hematol* 2010 ; 32 : 288-98.
11. Dastugue N, Suci S, Plat G, Speleman F, Cavé H, Girard S, *et al.* Hyperdiploidy with 58-66 chromosomes in childhood B-acute lymphoblastic leukemia is highly curable : 58951 CLG-EORTC results. *Blood* 2013 ; 121 : 2415-23.
12. Paulsson K, Lilljebjörn H, Biloglav A, Olsson L, Rissler M, Castor A, *et al.* The genomic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2015 ; 47 : 672-6.
13. Nachman JB, Heerema NA, Sather H, Camitta B, Forestier E, Harrison CJ, *et al.* Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2007 ; 110 : 1112-5.
14. Charrin C, Thomas X, Ffrench M, Le QH, Andrieux J, Mozziconacci MJ, *et al.* A report from the LALA-94 and LALA-SA groups on hypodiploidy with 30 to 39 chromosomes and near-triploidy : 2 possible expressions of a sole entity conferring poor prognosis in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2004 ; 104 : 2444-51.
15. Moorman AV, Harrison CJ, Buck GA, Richards SM, Secker-Walker LM, Martineau M, *et al.* Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood* 2007 ; 109 : 3189-97.
16. Mühlbacher V, Zenger M, Schnittger S, Weissmann S, Kunze F, Kohlmann A, *et al.* Acute lymphoblastic leukemia with low hypodiploid/near triploid karyotype is a specific clinical entity and exhibits a very high TP53 mutation frequency of 93%. *Genes Chromosomes Cancer* 2014 ; 53 : 524-36.
17. Holmfeldt L, Wei L, Diaz-Flores E, Walsh M, Zhang J, Ding L, *et al.* The genomic landscape of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2013 ; 45 : 242-52.
18. Lafage-Pochitaloff M, Baranger L, Hunault M, Cucchini W, Bidet A, Dastugue N, *et al.* Value of cytogenetic abnormalities in adult patients with Philadelphia chromosome (Ph)-negative acute lymphoblastic leukemia (ALL) treated in the pediatric-inspired GRAALL trials.. In : *Annual meeting of the American Society of Hematology, San Francisco December, 2014.*
19. Harrison CJ. Blood Spotlight on iAMP21 acute lymphoblastic leukemia (ALL), a high-risk pediatric disease. *Blood* 2015 ; 125 : 1383-6.

20. Chapiro E, Radford-Weiss I, Cung HA, Dastugue N, Nadal N, Taviaux S, *et al*, on behalf of Groupe francophone de cytogénétique hématologique. Chromosomal translocations involving the IGH@ locus in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: 29 new cases and a review of the literature. *Cancer Genet* 2013 ; 206 : 162-73.
21. Russell LJ, Enshaeh A, Jones L, Erhorn A, Masic D, Bentley H, *et al*. IGH@ translocations are prevalent in teenagers and young adults with acute lymphoblastic leukemia and are associated with a poor outcome. *J Clin Oncol* 2014 ; 32 : 1453-62, Erratum in : *J Clin Oncol* 2014 ; 32 : 3687.
22. van der Veer A, Waanders E, Pieters R, Willemse ME, Van Reijmersdal SV, Russell LJ, *et al*. Independent prognostic value of BCR-ABL1-like signature and IKZF1 deletion, but not high CRLF2 expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood* 2013 ; 122 : 2622-9.
23. Clappier E, Auclerc MF, Rapon J, Bakkus M, Caye A, Khemiri A, *et al*. An intragenic ERG deletion is a marker of an oncogenic subtype of B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with a favorable outcome despite frequent IKZF1 deletions. *Leukemia* 2014 ; 28 : 70-7.
24. Coyaud E, Struski S, Prade N, Familiades J, Eichner R, Quelen C, *et al*. Wide diversity of PAX5 alterations in B-ALL: a Groupe francophone de cytogénétique hématologique study. *Blood* 2010 ; 115 : 3089-97.
25. Hagemeijer A, Graux C. ABL1 rearrangements in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2010 ; 49 : 299-308.
26. Clappier E, Collette S, Grardel N, Girard S, Suarez L, Brunie G, *et al*. NOTCH1 and FBXW7 mutations have a favorable impact on early response to treatment, but not on outcome, in children with T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) treated on EORTC trials 58881 and 58951. *Leukemia* 2010 ; 24 : 2023-31.
27. Beldjord K, Chevret S, Asnafi V, Huguet F, Boulland ML, Leguay T, *et al*, on behalf of Group for research on adult acute lymphoblastic leukemia (GRAALL). Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014 ; 123 : 3739-49.
28. Graux C, Cools J, Michaux L, Vandenberghe P, Hagemeijer A. Cytogenetics and molecular genetics of T-cell acute lymphoblastic leukemia : from thymocyte to lymphoblast. *Leukemia* 2006 ; 20 : 1496-510.
29. Van Vlierberghe P, Ferrando A. The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 3398-406.
30. De Keersmaecker K, Real PJ, Gatta GD, Palomero T, Sulis ML, Tosello V, *et al*. The TLX1 oncogene drives aneuploidy in T cell transformation. *Nat Med* 2010 ; 16 : 1321-7.
31. Graux C, Stevens-Kroef M, Lafage M, Dastugue N, Harrison CJ, Mugneret F, *et al*, on behalf of Groupe francophone de cytogénétique hématologique and Belgian cytogenetic group for hematology and oncology. Heterogeneous patterns of amplification of the NUP214-ABL1 fusion gene in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2009 ; 23 : 1225-33.
32. Attarbaschi A, Pisecker M, Inthal A, Mann G, Janousek D, Dworzak M, *et al*, on behalf of the Austrian Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) study group prognostic relevance of TLX3 (HOX11L2) expression in childhood T-cell acute lymphoblastic leukaemia treated with Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) protocols containing early and late re-intensification elements. *Br J Haematol* 2009 ; 148 : 293-300.
33. Cauwelier B, Cavé H, Gervais C, Lessard M, Barin C, Perot C, *et al*. Clinical, cytogenetic and molecular characteristics of 14 T-ALL patients carrying the TCRbeta-HOXA rearrangement: a study of the Groupe francophone de cytogénétique hématologique. *Leukemia* 2007 ; 21 : 121-8.
34. Van Vlierberghe P, van Grotel M, Beverloo HB, Lee C, Helgason T, Buijs-Gladdines J, *et al*. The cryptic chromosomal deletion del(11)(p12p13) as a new activation mechanism of LMO2 in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006 ; 108 : 3520-9.
35. Clappier E, Cucchini W, Kalota A, Crinquette A, Cayuela JM, Dik WA, *et al*. The C-MYB locus is involved in chromosomal translocation and genomic duplications in human T-cell acute leukemia (T-ALL), the translocation defining a new T-ALL subtype in very young children. *Blood* 2007 ; 110 : 1251-61.
36. La Starza R, Borga C, Barba G, Pierini V, Schwab C, Matteucci C, *et al*. Genetic profile of T-cell acute lymphoblastic leukemias with MYC translocations. *Blood* 2014 ; 124 : 3577-82.
37. Herranz D, Ambesi-Impiombato A, Palomero T, Schnell SA, Belver L, Wendorff AA, *et al*. A NOTCH1-driven MYC enhancer promotes T cell development, transformation and acute lymphoblastic leukemia. *Nat Med* 2014 ; 20 : 1130-7.
38. Van Vlierberghe P, van Grotel M, Tchinda J, Lee C, Beverloo HB, van der Spek PJ, *et al*. The recurrent SET-NUP214 fusion as a new HOXA activation mechanism in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2008 ; 111 : 4668-80.
39. Ben Abdelali R, Roggy A, Leguay T, Cieslak A, Renneville A, Touzart A, *et al*. SET-NUP214 is a recurrent $\gamma\delta$ lineage-specific fusion transcript associated with corticosteroid/chemotherapy resistance in adult T-ALL. *Blood* 2014 ; 123 : 1860-3.
40. Caudell D, Aplan PD. The role of CALM-AF10 gene fusion in acute leukemia. *Leukemia* 2008 ; 22 : 678-85.
41. Marks DI, Paietta EM, Moorman AV, Richards SM, Buck G, DeWald G, *et al*. T-cell acute lymphoblastic leukemia in adults: clinical features, immunophenotype, cytogenetics, and outcome from the large randomized prospective trial (UKALL XII/ECOG 2993). *Blood* 2009 ; 114 : 5136-45.
42. Zhang J, Ding L, Holmfeldt L, Wu G, Heatley SL, Payne-Turner D, *et al*. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2012 ; 481 : 157-63.
43. Harrison CJ, Haas O, Harbott J, Biondi A, Stanulla M, Trka J, *et al*, Biology and diagnosis Committee of International Berlin-Frankfurt-Münster study group. Detection of prognostically relevant genetic abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: recommendations from the Biology and Diagnosis Committee of the International Berlin-Frankfurt-Münster study group. *Br J Haematol* 2010 ; 151 : 132-42.
44. Harrison CJ. Acute lymphoblastic leukemia. *Clin Lab Med* 2011 ; 31 : 631-47.
45. Moorman AV. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood Rev* 2012 ; 26 : 123-35.
46. Amarin S, Houlgatte R, Thieblemont C, Eclache V, Cymbalista F, Corre J, *et al*. Apport de la cytogénétique au pronostic et aux décisions thérapeutiques dans les hémopathies malignes lymphoïdes. *EMC-Hématologie* 2015 ; 10 : 1-14.
47. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, *et al*. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European group for the immunological characterization of leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995 ; 9 : 1783-6.
48. Schwab C, Harrison CJ. Acute lymphoblastic leukaemia. *Methods Mol Biol* 2011 ; 730 : 99-117.